Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Haffner

Zum Nachweis der biologischen Wirkung schwerlöslicher Stoffe

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Otto Preugschat

aus Kulligkehmen (Ostpr.)

1939

Buchdruckerei Bölzle, Tübingen, Marktgasse 10

Dekan: Professor Dr. Usadel

Berichterstatter: Professor Dr. Haffner

Zum Druck genehmigt von der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen.

Die pharmakologische Untersuchung schwerlöslicher Stoffe, z. B. vieler als Adstringenzien und Desinfizienzien benützten Metallsalzen, stößt erklärlicherweise insofern auf Schwierigkeiten, als infolge der niederen Konzentration der dabei in Lösung gehenden Wirkungsstoffe im akuten Versuch in der Regel keine Wirkung nachzuweisen ist. Die folgenden Untersuchungen befassen sich damit, möglichst einfache, zu Reihenversuchen geeignete chronische Einwirkungen auf ihre Brauchbarkeit zum Nachweis der Zellgiftigkeit solcher schwerlöslichen Stoffe zu prüfen. Es wurden zunächst zu diesem Zweck Versuche an Hefe und an Kaulquappen durchgeführt, wobei so vorgegangen wurde, daß die biologischen Objekte in wäßrige Aufschwemmungen der zu untersuchenden Stoffe gebracht wurden und darin bis zum Eintritt deutlicher Wirkungen belassen wurden.

I. Versuche an Hefe.

Es wurde durchweg Bäckerhefe verwendet. Zum Ansatz sämtlicher Versuche ist eine 10%ige Rohrzuckerlösung verwandt worden. In den in der Tabelle angegebenen Konzentrationen wurden die unlöslichen Substanzen im Mörser mit 18 ccm der 10%igen Rohrzuckerlösung angerieben. Die löslichen Stoffe wurden in 18 ccm Rohrzuckerlösung in Lösung gebracht. Zu diesen Ansätzen wurden jeweils 2 ccm einer 10%igen Hefeaufschwemmung in 10%igem Rohrzucker hinzugegeben. Dieser Ansatz wurde in Gärröhrchen gefüllt und in einer ersten Versuchsreihe jeden Tag über 4 Stunden lang die Gärfähigkeit der Hefe kontrolliert. Die Summe der entwickelten Kohlensäuremengen aus der 3. und 4. Stunde wurde als Maß für die Gärfähigkeit verwendet.

Bei dieser ersten Versuchsreihe wurden metallisches Kupfer, Eisenoxyd, Kalomel und Bism. subnitr. untersucht. In Tabelle 1 sind die Ergebnisse angegeben; die Zahlen geben die in der betreffenden Stunde entwickelte Kohlensäure in ccm an. Das Gasvolumen wurde, da es sich um eine Vergleichsreihe handelt, nicht reduziert. Als Bezugswerte haben die beiden giftfreien Kontrollen zu gelten.

Tabelle 1.

Stunde	Kontrolle I	Kontrolle II	1% Cupr. met.	1% Kalomel	1% Ferr. oxyd.	1% Bism. subnit.
	1. Tag					
1.	1,0	1,0	0,6	0,7	2,4	—
2.	2,5	2,5	2,0	3,3	5,1	0,4
3.	4,2	4,2	2,3	3,3	5,1	0,4
4.	4,8	4,8	3,6	2,8	5,1	0,4
5.	5,0	5,0	4,5	3,5	5,4	0,5
6.	5,0	5,0	4,7	4,0	5,6	0,5
	2. Tag					
1.	1,9	1,9	1,9	1,5	3,5	0,6
2.	2,9	3,0	2,8	2,0	3,9	0,5
3.	2,7	2,8	3,0	2,0	4,0	0,5
4.	3,0	3,1	3,0	1,9	4,0	0,5
	3. Tag					
1.	2,0	2,1	2,3	1,0	3,5	0,5
2.	3,4	3,5	2,8	1,3	4,0	0,5
	4. Tag					
1.	1,5	1,5	2,1	0,4	2,6	0,8
2.	1,5	1,6	2,5	0,8	2,5	1,4
3.	2,0	2,0	2,1	0,5	2,5	1,6
4.	2,3	2,3	2,1	0,5	2,5	1,6
	5. Tag					
1.	1,4	1,5	0,8	0,5	0,5	1,4
2.	1,3	1,4	1,5	0,4	0,3	1,5
3.	1,6	1,7	1,6	0,4	0,3	1,6
4.	1,8	1,9	1,8	0,3	0,3	1,5

Tabelle 2.

Stunde	20 ccm H_2O 5% Hefe 1% Kalomel	20 ccm H_2O 5% Hefe	20 cmm 2% Z. 1% Hefe 1% Kalomel	20 ccm 2% Z. 1% Hefe	20 ccm 40% Z. 1% Hefe 1% Kalomel	20 ccm 40% Z. 1% Hefe	20 ccm 2% Z. 1% Hefe 1/100 mol. Kal. phosphat
	1. Tag						
1.	—	—	2,7	2,2	2,0	3,2	1,3
2.	—	—	3,0	2,8	1,6	2,5	2,5
3.	—	—	2,5	2,2	1,2	2,0	2,3
4.	—	—	2,0	1,8	1,0	1,7	1,6
5.	—	—	2,0	1,8	1,0	1,7	1,6
	2. Tag						
1.	—	—	0,2	0,2	1,3	1,8	0,3
2.	—	—	0,2	0,2	1,0	1,8	0,3
3.	—	—	0,1	0,1	0,7	1,6	0,2
4.	—	—	0,1	0,1	0,7	1,5	0,2
5.	—	—	0,1	0,1	0,7	1,5	0,2
	3. Tag						
1.	—	—	0,2	0,2	0,5	1,3	0,2
2.	—	—	0,2	0,2	0,5	1,3	0,1
3.	—	—	0,2	0,2	0,5	1,3	0,1
4.	—	—	0,2	0,1	0,5	1,2	0,1
5.	—	—	0,2	0,1	0,5	1,2	0,1
	3. Tag	(Sämtliche Ansätze abzentrifugiert und mit den entsprechenden Zuckerlösungen neu angesetzt)					
	+	+					
1.	3,7	6,0	—	1,2	—	0,1	0,7
2.	8,5	10,5	0,6	3,0	0,1	1,0	3,2
3.	7,9	8,9	1,0	3,5	0,1	1,3	4,5
4.	7,0	7,3	1,0	3,5	0,2	1,3	4,1
5.	6,5	6,8	1,0	3,5	0,2	1,3	4,4
	4. Tag						
1.	0,7	0,7	1,0	2,0	0,2	1,5	2,0
2.	0,6	0,6	1,1	2,0	0,3	1,5	1,6
3.	0,5	0,4	1,0	1,8	0,3	1,5	1,5

+) Die beiden zuckerfreien Ansätze wurden nach dem Abzentrifugieren mit 2%igem Zucker neu angesetzt.

Fortsetzung zu Tabelle 2.

	5. Tag						
1.	0,2	0,2	0,2	0,4	0,5	1,0	—
2.	0,2	0,2	0,5	0,5	0,2	0,9	0,1
3.	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,8	—
4.	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,6	—
5.	—	—	0,1	0,1	—	0,5	—
	6. Tag	(Wieder abzentrifugiert und mit den entsprechenden Zuckerlösungen neu angesetzt)					
1.	0,7	3,9	—	0,5	—	0,1	—
2.	4,0	9,4	0,1	2,6	—	0,6	3,0
3.	4,4	8,5	0,1	3,0	—	0,8	4,2
4.	4,6	6,7	0,1	2,7	—	0,7	3,6
5.	5,2	6,2	—	3,0	—	0,9	3,7

Wie das Ergebnis zeigt, tritt eine deutliche Wirkung nur bei Bisn. subnitr. am 1. Versuchstage ein. Bei den anderen Stoffen dagegen erst im Laufe der weiteren Tage. Erklärlicherweise nimmt im Laufe der Zeit auch die Gärtätigkeit der Kontrolle ab, wofür teils die zunehmende Alkoholkonzentration, teils die abnehmende Zuckerkonzentration ausschlaggebend verantwortlich zu machen ist. Aus diesem Grunde wurde eine zweite Versuchsreihe in der Weise durchgeführt, daß, nachdem zunächst wie bisher die Gärtätigkeit des ersten Ansatzes über mehrere Tage verfolgt worden war, die Hefezellen samt den unlöslichen Prüfstoffen auszentrifugiert und mit einer neuen 10%igen Rohrzuckerlösung zum Gärversuch angesetzt wurden. Dabei wurde gleichzeitig die Hefe- und Zuckerkonzentration variiert, um die geeignetste Konzentration herauszufinden. Dieser in Tabelle 2 wiedergegebene Versuch ergab zunächst, daß eine 1%ige Hefeaufschwemmung in 2%iger Zuckerlösung nach Erneuerung des Mediums am 3. Tag nach dem ersten Ansatz eine etwa doppelt so große Kohlensäuremenge wie am 1. Tag des Ansatzes entwickelte, während am 6. Tag nach dem Ansatz die Gärtätigkeit wieder eine geringe Abnahme aufwies. Die Steigerung am 3. Tag darf wohl auf eine inzwischen eingetretene Vermehrung der Hefezellen, der geringe Rückgang am 6. Tag auf eine beginnende Erschöpfung der Hefe an Bios- und anderen notwendigen Ergänzungsstoffen zurückgeführt werden. Auch die zunächst 2 Tage lang in

Wasser aufgeschwemmte 5%ige Hefesuspension zeigte nach Ueberführung in 2%ige Zuckerlösung am 3. und 6. Tag eine gute nur wenige unterschiedliche Gärtätigkeit. In 40%igem Zucker blieb dagegen von Anfang an die Gärtätigkeit stark gehemmt und nahm mit der Dauer des Aufenthalts in diesem hypertonischen Milieu noch weiter ab. Die Zugabe einer Kaliumphosphatlösung von etwa 5,0pH bewirkte nur eine unwesentliche Verbesserung der Gärtätigkeit gegenüber dem phosphatfreien Ansatz mit 2%igem Zucker.

Die Wirkung des Kalomels zeigt sich in der 2%igen Zuckerlösung am 1. Tag noch nicht, sie wird aber nach Erneuerung des Mediums am 3. und noch mehr am 6. Tag sehr deutlich. In der 40%igen Zuckerlösung ist die Kalomelwirkung schon am 1. Tag ziemlich stark (Abnahme der Gärtätigkeit auf etwa die Hälfte) und führt in den folgenden Tagen schließlich zur vollen Einstellung der Gärtätigkeit. Interessanterweise besitzt das Kalomel solange es mit der Hefe ohne Zucker in Berührung ist, wie es scheint, keine erhebliche Giftwirkung. Diese wird erst nachweisbar, nachdem durch Zuckerzusatz die Hefe Gärungsmöglichkeit bekam. Dabei bleibt aber bei diesem 5%igen Hefeansatz die Schädigung wesentlich hinter der der 1%igen Hefe zurück, was wohl so erklärt werden muß, daß die aus dem Kalomel langsam entstehende wirksame Substanz zunächst nur zur Schädigung eines kleinen Teilbetrages der vorhandenen Hefezellen ausreicht.

Auf Grund einer weiteren Versuchsreihe, in welcher eine 2%ige und eine 10%ige Zuckerlösung miteinander verglichen wurden, wurden für die Hauptversuche die Anordnungen so getroffen:

Der Ansatz und alle folgenden Gärversuche wurden mit 10%igem Zucker durchgeführt. Die Hefe wurde zunächst in 1%iger Suspension mit den zu untersuchenden Pulvern in Reagenzgläsern mit 10%iger Zuckerlösung angesetzt, dann nach dreitägigem Stehen samt den unlöslichen Stoffen auszentrifugiert und zur Gärprobe mit frischer 10%iger Zuckerlösung in die Gärröhrchen überführt. Die wenigen der folgenden untersuchten Stoffe, die wasserlöslich waren, wurden dem Ansatz im Gärkolben in der ursprünglichen Konzentration wieder zugesetzt. Die Ergebnisse der so durchgeführten Versuche sind in den Tabellen 3, 4 und 5, nach Substanzgruppen geordnet, wiedergegeben. Es wurde durchweg dabei die jeweils entwickelte Kohlensäuremenge in Prozenten der in jedem Einzelversuch neu angesetzten Kontrolle angegeben

Tabelle 3.

Metalle und andere Substanzen

Gärtätigkeit in % der Kontrolle

Agens	Konzentration	nach 3 Tagen	nach 7 Tagen
Kupfer	1%	96,5	94,4
Eisen	1%	44,8	27,7
Zink	1%	13,7	0
Aluminium	1%	51,7	37,7
Quecksilber	1%	96,0	92,3
Silber	1%	100,0	84,6
Blei	1%	89,6	83,3
Collargol	1%	0	
Colloides Kupfer	1%	0	
Schwefel	1%	83,3	
Carbo medicin.	1%	100,0	
Argocarbon	1%	0	
Silargel	1%	7,3	

Die Metalle wurden teils als handelsübliche Pulver, teils frisch geraspelt verwendet.

Tabelle 4.

Anorganische Verbindungen

Gärtätigkeit in % der Kontrolle*)

Agens	Konzentration	Unlösliche und schwerlösliche Stoffe	Lösliche Stoffe
Natrium sulfur.	1%		0
Borax	1%		35,4
Borsäure	1%		16,6
Borsäure	0,1%		60,4
Barium sulfur.	1%	83,0	
Magnesia usta	1%	0	
Kupferchlorür	1%		0
Kupferchlorid	1%		0
Kupfersulfat	1%		0

*) Nach 3 Tagen.

Fortsetzung von Tabelle 4.

Agens	Konzentration	Gärtätigkeit in % der Kontrolle: Unlösliche und schwerlösliche Stoffe	Lösliche Stoffe
Ferrosulfat	1%		62,5
Ferrisulfat	1%		0
Alum. oxydat.	1%	83,3	
Terra silicia usta	1%	76,7	
Bolus alba	1%	100,0	
Cerium oxalic.	1%	43,7	
Cerium sulf. oxyd.	1%	0	
Mangansuperoxyd	1%	30,3	
Zink. oxyd.	1%	0	
Bleiwasser 50% Verd.			27,2
Minium	1%	42,3	
Lithargyrum	1%	83,0	
Plumb. chromic.	1%	81,8	
Cerussa	1%	78,7	
Kalomel	1%	16,6	
Hydrarg. praec. alb.	1%	0	
Hydrarg. sulfurat.	1%	100,0	
Hydrarg. salicyl.	1%	0	
Hydrarg. bijodat.	1%	0	
Hydrarg. oxyd.	1%	0	
Hydrarg. oxyd. rubr.	1%	0	
Bism. subgallic.	1%	80,0	
Bism. subnitr.	1%	17,1	
Bism. subsalicyl.	1%	11,4	
Bism. bitannic.	1%	68,6	
Bism. carbonic.	1%	68,6	
Airol	1%	0	
Xeroform	1%	5,7	
Stib. sulf. aur.	1%	42,8	
Tartr. stibiat.	1%		131,2
Tartr. stibiat.	0,1%		143,7
Acid. arsenicos.	1%	22,9	
Acid. arsenicicum	1%	12,5	
Argent. chlorat.	1%	0	
Targesin	1%	0	
Argent. proteinic.	1%	0	

Tabelle 5.

Organische Verbindungen

Agens	Konzentration	Gärtätigkeit in % der Kontrolle*)
Adalin	1%	86,6
Bromural	1%	58,6
Veronal	1%	76,6
Sulfonal	1%	86,8
Anaesthesin	1%	41,0
Orthoform	1%	166,6
Antifebrin	1%	39,3
Phenaeltin	1%	81,8
Aspirin	1%	0
Aspirin	0,1%	58,3
Salol	1%	41,0
Thymol	1%	0
Thymol	0,1%	0
Thymol	0,01%	54,8
Guajacol. carb.	1%	100,0
Nipagin	1%	33,3
Nipasol	1%	33,3
Naphtalin	1%	56,6
Menthol	1%	100,0
Champher	1%	33,3
Oleum terebint.	1%	0
Oleum terebint.	0,1%	57,8
Colophonium	1%	75,8
Santonin	1%	78,7
Sacharin	1%	109,0
Dulcin	1%	115,4
Cumarin	1%	42,4
Vanillin	1%	33,3
Jodoform	1%	36,6
Paraform	1%	56,6
Formamint	1%	66,6
Metaldehyd	1%	76,6
Tannigen	1%	84,4
Tannalbin	1%	177,7

*) Nach 3 Tagen.

Fortsetzung von Tabelle 5.

Agens	Konzentration	Gärtätigkeit in % der Kontrolle
Chinin. tannic.	1%	0
Euchinin	1%	0
Plasmochin	1%	22,2
Novasurol	0,5%	0
Neosalvarsan	1%	91,1
Saponin	1%	0
Saponin	0,1%	0
Saponin	0,01%	93,5
Folia Sennae	1%	100,0
Aloe	1%	53,4
Chrysarobin	1%	65,7
Isticin	1%	74,1
Resina Jalapae	1%	86,2
Extr. Colocynthidis	1%	125,8
Podophyllin	1%	51,5
Gutti	1%	75,8
Gelöste organische Stoffe.		
Cardiazol	0,5%	83,3
Cardiazol	1%	66,6
Cardiazol	2%	12,5
Cardiazol	4%	0
Neospiran	1%	100,0
Coramin	1%	96,2

Wie schon einleitend erwähnt, ist es die Absicht der vorliegenden Arbeit, wasserunlösliche Stoffe zu untersuchen, wobei wir uns natürlich klar sind, daß es eine absolute Wasserunlöslichkeit nicht gibt, daß wir also genau genommen mit Stoffen arbeiten, die in verschiedenem Grade schwerlöslich sind. Bei starken Verdünnungen dieser Stoffe, wird daher ein beträchtlicher Anteil davon in Lösung gehen. Vergleichshalber sind außerdem einige gut wasserlösliche Substanzen mit untersucht.

Wie eine Uebersicht über die Tabellen ergibt, bestehen große Unterschiede der Wirksamkeit. Die Ergebnisse des Gärversuches schwanken zwischen 100%, also vollkommener Unwirksamkeit und 0%, vollkommener

Unterdrückung der Gärtätigkeit. Dabei gelten diese Ergebnisse selbstverständlich nur für angewandte Methode, das verwendete Substrat (Bäckerhefe) und die Beobachtungszeit. Sie gaben, worauf es uns zunächst ankam, für unsere Versuchsbedingungen ein vergleichbares Maß der Wirksamkeit der einzelnen Stoffe. Es muß aber damit gerechnet werden, daß auch die, in unserem Versuch vollkommen unwirksam gefundenen Stoffe, bei längerer Einwirkung schließlich auch noch wirksam gefunden worden wären.

Im einzelnen möge auf folgende Ergebnisse hingewiesen werden:

1. Unter den Metallen erwies sich Zink am wirksamsten, was wohl mit seiner leichten Angreifbarkeit durch saure Reaktion zusammenhängt. Deutlich und etwa gleich wirksam waren Eisen und Aluminium. Fast unwirksam erwiesen sich Kupfer, Quecksilber, Silber, und Blei, was vielleicht mit einer nachträglichen Entgiftung der in Lösung gegangenen Metallionen durch Bildung unlöslicher Verbindungen zusammenhängt.

Wie zu erwarten war, erwiesen sich die kolloidalen Metalle stark wirksam. Bemerkenswerterweise erwies sich auch das an Adsorbenzien angelagerte Silber (Argocarbon und Silargel) hoch wirksam.

2. Schwefel zeigt im Hefeversuch nur sehr geringe Wirksamkeit. Hier dürften Methoden, die unter anderen Reaktionserscheinungen arbeiten, wohl andere Resultate ergeben.

3. Unwirksam erwiesen sich auch die Adsorptionsmittel Kohle und Bolus alba. Die positive Wirksamkeit von Terra silicica usta, Magnesia usta und Aluminiumoxyd dürfte in erster Linie auf einer rein chemischen Bindung der entstandenen Kohlensäure beruhen.

4. Daß die wasserlöslichen Metallverbindungen erheblich wirksam sind, war zu erwarten.

5. Unter den unlöslichen Metallverbindungen bestehen ebenfalls sehr große Unterschiede in der Wirksamkeit. Durchweg schwach wirksam erwiesen sich die Bleiverbindungen, durchweg stark wirksam die Quecksilberverbindungen mit Ausnahme des Quecksilbersulfids. Bemerkenswert erscheint die starke Wirksamkeit des Silberchlorids und des Zinkoxyds. Unter den Wismutsalzen bestehen sehr große Verschiedenheiten, bei den stark wirkenden (Xeroform, Airol, Bism. subsalicyl.) dürfte die eigene Wirksamkeit des Anions entscheidend beteiligt sein.

6. Unter den Metalloiden erscheint uns die stärkere Wirksamkeit der Arsensäure gegenüber der arsenigen Säure bemerkenswert und vor allem die Wirkung von Tartr. stibiat., der nicht nur keine Hemmung, sondern sogar eine sehr deutliche Förderung der Gärtätigkeit veranlaßt.

7. Unter den organischen Verbindungen zeigen die schwerlöslichen Vertreter der Narkotika und Lokalanästhetika nur mäßige Wirkung.

8. Bei den aromatischen Stoffen ist die starke Wirksamkeit der phenolartigen Verbindungen verständlich und bekannt. Einen Hinweis verdient dabei jedoch die starke Wirksamkeit des Aspirins, die das Salol und die neuen Konservierungsmittel Nipagin und Nipasol sogar übertrifft. Die Unwirksamkeit des Guajacol. carb. dürfte wiederum unter anderen Reaktionsverhältnissen anders gelagert sein.

9. Aus der Gruppe der ätherischen Oele wurde bei Terpentinöl, Colophonium und Campher starke oder wenigstens deutliche Wirksamsamkeit gefunden im Gegensatz zu dem auffallenderweise unwirksamen Menthol.

10. Die schwerlöslichen Aldehyde Metaldehyd, Paraform (einschließlich Formamint) waren deutlich wirksam.

11. Die Anthrachinonderivate der Gruppe der Abführmittel und die sog. Harzsäuren dieser Gruppe zeigen ebenfalls deutliche Gärungshemmung, mit Ausnahme der beiden galenischen Präparate Folia ennae und Extr. Colocynthidis, deren Unwirksamkeit wohl durch eine Förderung von Biosstoffen bedingt sein dürfte.

12. Ueberraschend wirksam erwies sich Saponin, wobei es sich um das Merck'sche Präparat handelt.

13. Hinzuweisen wäre auch noch auf die starke Giftigkeit des Euchinins.

14. Im Gegensatz zu den beiden amidartigen Analeptika Coramin und Neospiran hemmte Cardiazol deutlich die Gärtätigkeit.

II. Versuche an Kaulquappen.

Die Versuche an Kaulquappen wurden in der Weise durchgeführt, daß in Glasschalen 250 ccm einer Aufschwemmung der zu untersuchenden Stoffe in Leitungswasser angesetzt wurden und dazu sofort jeweils vier Kaulquappen gegeben wurden. Die Versuche blieben bei Zimmertemperatur bis zu zwei Wochen stehen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Auch hier zeigt sich bei fast allen untersuchten Stoffen eine sehr deutliche Giftigkeit, die bei den meisten sogar überraschend frühzeitig in Erscheinung tritt und bei genügend langer Zeit zum Teil noch in sehr starken Verdünnungen nachzuweisen ist.

So wirkte eine 1%ige Aufschwemmung von Kalomel bereits nach drei Stunden, eine 0,001%ige nach 80 Stunden tödlich. Eine Parallelität der Wirkung bei Hefe und Kaulquappen ist, wie nicht anders zu erwarten war, nur in beschränktem Maße vorhanden.

Mit den Kaulquappen wurden auch noch einige Versuche angestellt, um festzustellen, ob die Anwesenheit der Kaulquappen für die Freimachung der Wirkstoffe von Bedeutung ist. Es wurden dazu einige Substanzen in Wasser aufgeschwemmt, 6 Tage lang bei Zimmertemperatur ohne Zugabe der Kaulquappen belassen, darauf die überstehende Lösung abfiltriert und mit Kaulquappen beschickt. Bei Jodoform und Paraform gingen die eingesetzten Tiere in derselben Zeit ein, wie in den entsprechenden Versuchen, bei denen die Kaulquappen sofort nach Aufschwemmung des Pulvers der Mischung zugegeben worden waren. Bei Kalomel gingen die Tiere in abfiltrierter Lösung sogar etwas früher ein. Die wirksamen Stoffe gehen also in diesen Fällen auch ohne Mitwirkung der Lebewesen in das Wasser über.

Tabelle 6.

Kaulquappen + = tot, — = leben

	1%	0,1%	0,01%	0,001%	0,0001%	0,00001%
Kalomel	3 St. +	...	5 St. +	20 St. +	80 St. +	220 St. —
Acidum arsenic.	8 St. +	50 St. +	60 St. +	80 St. +	195 St. —	
Jodoform	40 Min. +	...	4 St. +	30 St. +	38 St. +	220 St. —
Kupfersulfat	1 St. +	...	7 St. +	20 St. +	250 St. +	
Collargol	1 St. +	...	...	9 St. +	360 St. —	
Paraform	15 Min. +	...	...	6 St. +	290 St. —	
Chrysarobin	22 St. +	72 St. +	96 St. +	195 St. —		
Aloe	22 St. +	360 St. —				
Bism. subgall.	300 St. —					
Bism. subnitr.	48 St. +	220 St. —				
Cumarin	½ Min. +	...	10 Min. +	45 St. +	110 St. +	200 St. —
Vanillin	1 Min. +	...	45 St. +	80 St. +	195 St. —	
Sacharin	150 St. +	110 St. —				
Sulf. praec.	340 St. —					

	10-fache Verd.	100-fache Verd.	1000-fache Verd.	10000-fache Verd.
Bleiwasser	8 St. +	100 St. +	180 St. +	210 St. —

	0,1%	0,01%	0,0075%	0,005%	0,0025%	0,001%
Saponin	15 Min. +	1 St. +	25 St. +	33 St. +	4 Tage —	4 Tage —

	1%	0,5%	0,1%	0,075%	0,05%	0,025%
Glycyrrhizinum ammoniacale purum	20 Min. +	30 Min. +	$4^1/_4$ St. +	$5^1/_4$ St. +	$8^1/_4$ St. +	4 Tage —

	0,75%	0,5%	0,25%
Succ. Liquiritiae	3 St. +	$9^1/_2$ St. +	4 Tage —

III. Versuche an Algen.

Die Wirkung einiger schwerlöslicher Stoffe auf Algen wurde ebenfalls untersucht. Es wurden zwei Arten, Spirogyra und Cladophora verwendet, die zu diesem Zweck frisch aus zwei Wasserbecken des Botanischen Instituts gefischt worden waren. Die Versuche wurden in Reagenzgläsern angesetzt. In diese wurden jeweils ungefähr die gleichen Algenmengen der beiden Sorten in 20 ccm einer zehnfach verdünnten Benekerlösung gebracht, der die zu untersuchenden Stoffe in 1%iger Aufschwemmung beigegeben waren. Als Kontrolle dienten drei Ansätze der beiden Algensorten nur in Benekerlösung ohne weitere Zusätze. Die Algen blieben zehn Tage im hellen Raum, vor direkter Sonnenbestrahlung geschützt, stehen. Dann wurden sämtliche Ansätze mikroskopisch untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

Es bedeuten darin: ++++ völliger Tod, +++ ein kleiner Teil der Zellfäden lebte noch, ++ ungefähr die Hälfte der Zellfäden lebte, + ein kleiner Teil war abgestorben. — alle Zellfäden leben. Bei der Spirogyra ließ sich der Tod der Zellfäden daran feststellen, daß die Chloroblasten ihre typische spiralförmige Anordnung in der Zelle verloren hatten und entweder in der Zelle zusammengeballt lagen oder mehr oder weniger völlig zerstört waren. Der Tod der Cladophora war daran festzustellen, daß das Chlorophyll weitgehend entfärbt oder ganz verschwunden war. Bei der Spirogyra konnte man den Tod schon daran erkennen, daß die Zellfäden zu Boden gesunken waren. Die Kontrolle der Spirogyra waren ungefähr zur Hälfte tot (daher Kontrolle: ++).

Tabelle 7.

	Konzentration	Spirogyra	Cladophora
Kupfer	1%	++++	+++
Eisen	1%	++	+
Blei	1%	++	–
Schwefel	1%	++++	+++
Argocarbon	1%	++++	+++
Argent. proteinic.	0,1%	++++	++++
Argent. proteinic.	0,01%	++++	++++
Lithargyrum	1%	++++	+++
Hydr. praec. alb.	1%	++++	++++
Hydr. bijodat.	1%	++++	++++
Bism. subnitr.	1%	++++	++++
Bism. carb.	1%	++	–
Stib. sulf. aur.	1%	+	+++
Acid. arsenicosum	1%	++++	++++
Acid. arsenicicum	1%	++++	++++
Adalin	1%	+++	++++
Bromural	1%	++++	++++
Veronal	1%	++++	+++
Aspirin	1%	++++	++++
Phenacetin	1%	+++	+++
Colophonium	1%	++++	++++
Santonin	1%	++++	++++
Tannalbin	1%	++++	++++
Saponin	1%	++++	++++
Gutti	1%	++++	++++

IV. Versuche mit Blutkörperchen.

Um die hämolytische Wirkung der bisher untersuchten Stoffe zu prüfen, wurden folgende Versuche angesetzt. In 8 ccm einer 1%igen Aufschwemmung dieser Stoffe in 0,9%iger Kochsalzlösung wurden jeweils 2 ccm einer 5%igen Aufschwemmung von Blutkörperchen gegeben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Es bedeuten:

—	keine Hämolyse
+	beginnende Hämolyse
++	leichte Hämolyse
+++	fast vollkommene Hämolyse
++++	vollkommene Hämolyse

Tabelle 8.

a) Metalle und andere Substanzen

	nach 1 Std.	nach 1 Tag	nach 2 Tagen
Kupfer	—	—	+
Eisen	—	+	++++
Zink	—	Agglutination	
Aluminium	—	—	+
Quecksilber	—	+	++++
Schwefel	—	—	—
Carbo	—	+	+
Argocarbon	—	+	+++
Silargel	—	+++	+++

b) Anorganische Verbindungen.

Natrium sulfur.	++++	++++	++++
Borax	—	—	++++
Borsäure	—	—	+++
Barium sulfur.	—	—	+++

	nach 1 Std.	nach 1 Tag	nach 2 Tagen
Magnesia usta.	—	—	++
Kupferchlorür	trübe, grünliche Verfärbung		
Kupferchlorid	„	„	„
Kupfersulfat	„	„	„
Ferrosulfat	„	„	„
Ferrisulfat	trübe, bräunliche Verfärbung		
Terra silicia usta	—	+++	+++
Bolus alba	—	++++	++++
Cerium oxalic.	—	++	+++
Mangansuperoxyd	—	—	++
Zink. oxyd.	—	Agglutination	
Bleiwasser 50% Verd.	++++	++++	++++
Minium	—	—	+++
Lythargyrum	—	—	+++
Plumb. chromic.	—	—	gelbl. Verfärbung
Cerussa	—	—	++
Kalomel	—	+++	++++
Hydrarg. praec. alb.	—	—	—
Hydrarg. sulfurat.	—	++++	++++
Hydrarg. salicyl.	—	—	—
Hydrarg. bijodat.	++++	++++	++++
Hydrarg. oxyd.	—	—	—
Bism. subgallic.	—	+	bräunl. Verfärbg.
Bism. subnitr.	—	++	++
Bism. subsalicyl.	—	—	—
Bism. bitannic.	—	braune Verfärbung	
Bism. carbonic.	—	—	++
Airol	—	gelbe Verfärbung	
Xeroform	—	—	—
Stib. sulf-aur.	—	+	++
Tartr. stibiat.	—	+	+++
Acid. arsenicos.	—	—	++
Acid. arsenicic.	—	bräunliche Verfärbung	
Targesin	—	bräunliche Verfärbung	
Argent. proteinic.	—	bräunliche Verfärbung	

c) Organische Verbindungen.

	nach 1 Std.	nach 1 Tag	nach 2 Tagen
Adalin	—	—	—
Bromural	—	—	—
Veronal	—	++	+++
Sulfonal	—	—	—
Anaesthesin	—	—	—
Orthoform	—	bräunliche	Verfärbung
Antifebrin	—	—	—
Phenacetin	—	—	—
Aspirin	++++	++++	++++
Salol	—	—	—
Nipagin	—	+	++
Nipasol	—	+	++
Santonin	—	—	—
Sacharin	—	—	—
Dulcin	—	—	—
Cumarin	—	—	—
Vanillin	++++	++++	++++
Jodoform	—	—	—
Paraform	—	+	++
Formamint	—	+	bräunl. Verfärbg.
Metaldehyd	—	+	+
Tannigen	—	bräunliche	Verfärbung
Tannalbin	—	bräunliche	Verfärbung
Chinin. tannic.	—	+	+
Euchinin	—	—	+
Novasurol	—	++	++++
Neosalvarsan	—	—	—
Saponin	++++	++++	++++
Folia Sennae	—	bräunliche	Verfärbung
Aloe	—	bräunliche	Verfärbung
Chrysarobin	—	—	—
Isticin	—	—	—
Resina Jalapae	—	++++	++++
Extr. Colocythidis	—	bräunliche	Verfärbung
Podophyllin	—	++	++
Gutti	—	—	+
Colophonium	—	—	++++
Neospiran	—	—	—
Coramin	—	—	—

Zusammenfassung.

Mit Hilfe „chronischer" Versuche an Hefe und Kaulquappen wurde eine Reihe schwerlöslicher Stoffe auf ihre Giftigkeit untersucht. Ueber die Einzelergebnisse ist am Schluß der beiden Versuchsabschnitte zusammenfassend berichtet. Hier möge nur gesagt werden, daß sich die beiden angewandten Methoden sehr wohl eignen bei solchen schwerlöslichen Stoffen, die infolge dieser Schwerlöslichkeit im „akuten" Versuch wirkungslos befunden werden, die Wirksamkeit zu messen. Andererseits brachten die Versuche aber auch Hinweise dafür, daß Stoffe, die in den beiden beschriebenen Verfahren keine Wirkung erkennen ließen, möglicherweise unter anderen Versuchsbedingungen (vor allem anderen Reaktionsbedingungen) sich ebenfalls wirksam erweisen können und daß auch der Grad der Wirksamkeit der einzelnen Stoffe unter anderen Versuchsbedingungen erklärlicherweise ein anderer sein dürfte. Allgemeine Aussagen über die biologische Wirksamkeit von Stoffen dürfen daher auf Grund einzelner Prüfungsverfahren nicht gemacht werden.

Lebenslauf.

Ich, Otto Preugschat, bin am 21. Januar 1913 in Kulligkehmen (Ostpr.) geboren. Meine Schulzeit verbrachte ich an der Oberrealschule zu Gumbinnen, wo ich 1932 die Reifeprüfung ablegte. Seit 1932 studierte ich Zahnheilkunde an den Universitäten Königsberg und Tübingen. Im Frühjahr 1936 bestand ich in Tübingen das Zahnmedizinische Staatsexamen.